

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平11-500427

(43) 公表日 平成11年(1999) 1月12日

(51) Int.Cl.⁶

C 0 7 D 487/04

A 6 1 K 31/40

31/415

識別記号

1 3 7

ADU

F I

C 0 7 D 487/04

A 6 1 K 31/40

31/415

1 3 7

ADU

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 41 頁)

(21) 出願番号 特願平8-523576
 (86) (22) 出願日 平成8年(1996) 1月31日
 (85) 翻訳文提出日 平成9年(1997) 7月25日
 (86) 国際出願番号 PCT/US96/00727
 (87) 国際公開番号 WO96/23497
 (87) 国際公開日 平成8年(1996) 8月8日
 (31) 優先権主張番号 08/381, 355
 (32) 優先日 1995年1月31日
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 シンファー ラボラトリーズ, インコーポ
 レーティッド
 カナダ国 ティー6イー 5ヴィ2 アル
 バータ エドモントン 91エー ストリー
 ト 4290 タイホー アルバータ センタ
 ー #2
 (72) 発明者 ロウン ウィリアム, ジェイ.
 カナダ国 ティー6エイチ 3エスエル
 アルバータ エドモントン 117エー ス
 トリート 4704
 (74) 代理人 弁理士 三枝 英二 (外2名)

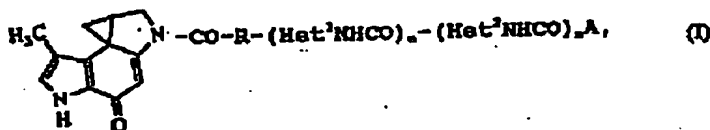
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 シクロプロピルピロロインドール-オリゴペプチド抗癌剤

(57) 【要約】

本発明は、抗癌剤として有用である新規なシクロプロピルピロロインドール-オリゴペプチド化合物に関する。新規なシクロプロピルピロロインドール-オリゴペプチド化合物は、一般式(I)を有し、式中、Het¹ および Het² は、ピロール、イミダゾール、トリアゾール、チオフェン、フラン、チアゾール、オキサゾールおよびピラゾール

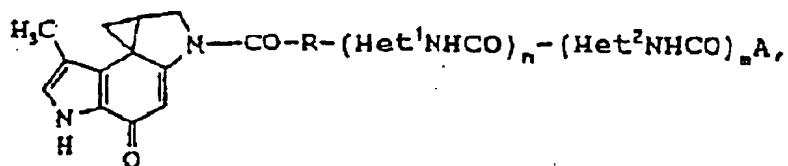
ルからなる群から個々に選択され、Rは、原子価結合；C₁-C₈アルキル；C₂-C₈アルケニル；C₂-C₈アルキニル；およびオルト、メタまたはパラ結合した芳香族基からなる群から選択され、Aは、C₁-C₈アルキル基；アミジンまたはその誘導体；グアニジン；第2級、第3級または第4級アンモニウム塩；およびスルホニウム塩からなる群から選択され、nは、0~3であり、mは、0~3である。



THIS PAGE BLANK (USPTO)

【特許請求の範囲】

1. 一般式：



〔式中、

Het¹およびHet²は、ピロール、イミダゾール、トリアゾール、チオフェン、フラン、チアゾール、オキサゾールおよびピラゾールからなる群から個々に選択され、

Rは、原子価結合；C₁-C₄アルキル；C₂-C₄アルケニル；C₁-C₄アルキニル；およびオルト、メタまたはパラ結合した芳香族基からなる群から選択され、

Aは、C₁-C₄アルキル基；アミジンまたはその誘導体；グアニジン；第2級、第3級または第4級アンモニウム塩；およびスルホニウム塩からなる群から選択され、

nは、0～3であり、および

mは、0～3である〕を有する化合物。

2. Rが-[CH₂]ₙ-（ここでn = 1～6）；-CH=CH-、EまたはZ；および-C=C-からなる群から選択される請求項1に記載の化合物。

3. 前記芳香族基がフェニルおよびナフチルからなる群から選択される請求項1に記載の化合物。

4. Rが一般式CₚH₂ₚ₊₁（ここで、pは3～7である）を有する二価のシクロアルカンである請求項1に記載の化合物。

5. Het¹がN-アルキルピロール（ここで、アルキルは1～4個の炭素原子を含む）である請求項1に記載の化合物。

6. Het¹がN-アルコキシメチルピロール（ここで、アルコキシは1～4個の炭素原子を含む）である請求項1に記載の化合物。

7. Het¹がN-アルキルイミダゾール（ここで、アルキルは1～4個の炭素原

子を含む)である請求項1に記載の化合物。

8. HetがN-アルコキシメチルイミダゾール(ここで、アルコキシは1~4個の炭素原子を含む)である請求項1に記載の化合物。

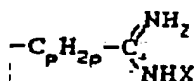
9. Het¹およびHet¹がチオフエン、フラン、チアゾール、オキサゾール、N-アルキルピロール、イミダゾール、ピラゾールおよびトリアゾールからなる群から個々に選択され、任意のアルキル基が1~4個の炭素原子を含む請求項1に記載の化合物。

10. Het¹およびHet¹がチオフエン、フラン、チア

ゾール、オキサゾール、N-アルコキシメチルピロール、イミダゾール、ピラゾールおよびトリアゾールからなる群から個々に選択され、任意のアルコキシ基が1~4個の炭素原子を含む請求項1に記載の化合物。

11. Aが1~6個の炭素原子を有する直鎖状アルキル基である請求項1に記載の化合物。

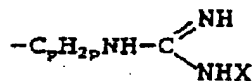
12. Aが式:



(式中、pは0~5であり、Xは-H、-OH、-NH₂、-CH₃、-CH₂CH₃、およびC₂H₅からなる群から選択される)を有する脂肪族側鎖を有するアミジンである請求項1に記載の化合物。

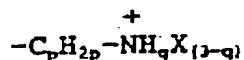
13. Aがアミジンであり、少なくとも1個の窒素原子が5員複素環構造の構成物である請求項1に記載の化合物。

14. Aが式:



(式中、pは0~5であり、Xは-H、-OH、-NH₂、-CH₃、-CH₂CH₃、およびC₂H₅からなる群から選択される)を有するグアニジンである請求項1に記載の化合物。

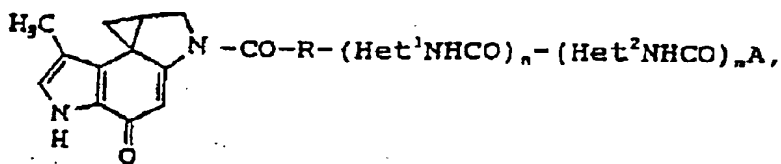
15. Aが式:



(式中、pは0～5であり、qは0、1、2、3であり、Xは1～3個の炭素原子を有するアルキルまたはアルケニル基である)を有する第4級、第3級または第2級アンモニウム塩である請求項1に記載の化合物。

16. Aが式 $C_pH_{2p}-SXY$ (式中、pは0～5であり、XおよびYは1～3個の炭素原子を有するアルキル基またはアルケニル基である)を有するスルホニウム塩である請求項1に記載の化合物。

17. 一般式：



[式中、

Het¹およびHet²は、ピロール、イミダゾール、トリアゾール、チオフェン、フラン、チアゾール、オキサゾールおよびピラゾールからなる群から個々に選択され、

Rは、原子価結合；C₁-C₄アルキル；C₁-C₄アルケニル；C₁-C₄アルキニル；およびオルト、メタまたはパラ結合し

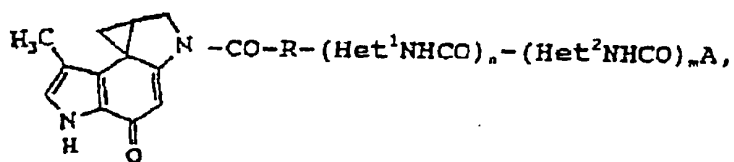
た芳香族基からなる群から選択され、

Aは、C₁-C₄アルキル基；アミジンまたはその誘導体；グアニジン；第2級、第3級または第4級アンモニウム塩；およびスルホニウム塩からなる群から選択され、

nは、0～3であり、および

mは、0～3である]を有する化合物を、薬学的に許容される担体とともに含む薬学的組成物。

18. 一般式：



[式中、

Het¹ および Het² は、ピロール、イミダゾール、トリアゾール、チオフェン、フラン、チアゾール、オキサゾールおよびピラゾールからなる群から個々に選択され、

R は、原子価結合；C₁-C₄アルキル；C₂-C₄アルケニル；C₁-C₄アルキニル；およびオルト、メタまたはパラ結合した芳香族基からなる群から選択され、

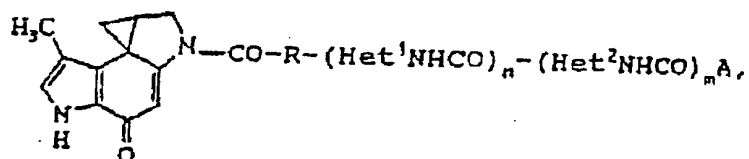
A は、C₁-C₄アルキル基；アミジンまたはその誘導体；グアニジン；第2級、第3級または第4級アンモニウム塩；およびスルホニウム塩からなる群から選択され、

n は、0~3であり、および

m は、0~3である] を有する化合物を、特定のDNA配列をアルキル化するのに有効な量で、そのようなアルキル化を必要としている患者に投与することを包含するインビボでの特定DNA配列のアルキル化方法。

19. 前記DNA配列がオンコジーンDNA配列である請求項18に記載の方法。

20. 一般式：



[式中、

Het¹ および Het² は、ピロール、イミダゾール、トリアゾール、チオフェン、フラン、チアゾール、オキサゾールおよびピラゾールからなる群から個々に選択され、

R は、原子価結合；C₁-C₄アルキル；C₂-C₄アルケニル；C₁-C₄アルキニル；および

びオルト、メタまたはパラ結合した芳香族基からなる群から選択され、

Aは、 C_1-C_6 アルキル基；アミジンまたはその誘導体；グアニジン；第2級、第3級または第4級アンモニウム塩；およびスルホニウム塩からなる群から選択され、

nは、0～3であり、および

nは、0～3である]を有する化合物を、癌を処置するのに有効な量で、そのような処置を必要としている患者に投与することを包含する癌処置方法。

【発明の詳細な説明】

シクロプロピルピロロインドール

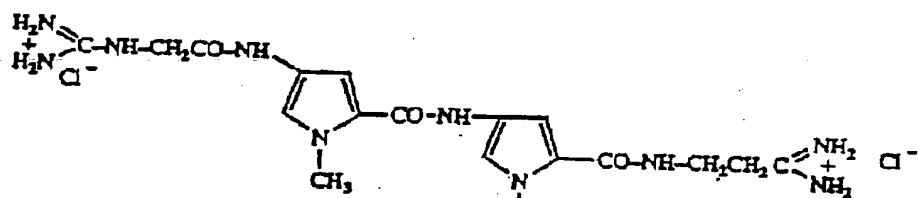
-オリゴペプチド抗癌剤

発明の分野

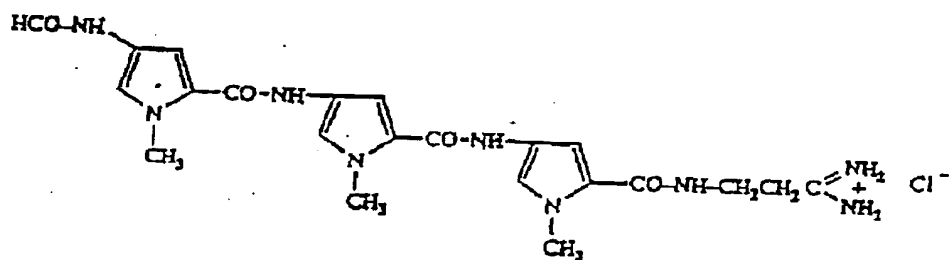
本発明は、抗癌剤として有用である新規なシクロプロピルピロロインドール-オリゴペプチドに関する。

発明の背景

標記化合物は、ネトロプシン (netropsin) (ジュリア, エム. (Julia, M.), プルージョセフ, エヌ. シー. アール. (Preau-Joseph, N.C.R.), Hebd-Seances, Acad. Sci., 1963, 257, 1115) およびジスタマイシン (distamycin) (アルカモネ, エフ. (Arcamone, F.), オレッジ, ピー. ジー. (Orezzi, P.G.), バービエル, ダブリュ. (Barbier, W.), ニコレラ, ヴィ. (Nicolella, V.), ペンコ, エス. (Penco, S.), ガゼッタ・キミカ・イタリアーナ (Gazz. Chim. Ital.), 1967, 97, 1097) を含む天然のオリゴペプチド抗ウイルス性抗腫瘍性抗生物質のファミリーに関連する。



ネトロプシン (Netropsin)



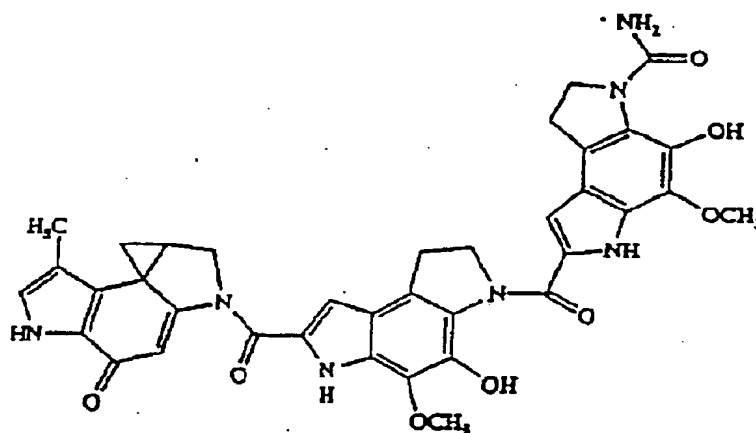
ジスタマイシン (Distamycin)

これらの構造物は、ペプチド結合で連結され側鎖を有するピロール部分を含み、少なくとも1つの側鎖は、正に荷電している、即ち、アミジン基、N-ホルミルまたはグアニジル・タイプの基である。

この群の天然のオリゴペプチド抗生物質の中で、ジスタマイシンのみが、単純ヘルペス、帯状ヘルペスおよびワクシニアウイルスによって生じる感染症の治療に、1%クリーム、軟膏およびペーストの形態（マルチンダール(Martindale)、The Extra Pharmacopoeia、第28版、p.825、1982）で、スタリマイシン塩酸塩(Stallimycin Hydrochloride)の名称で、治療剤として使用されている。ジスタマイシンの外用の制限は、その高い細胞毒性およびヘルペスウイルスの場合に約3であるといった低い治療指数に帰因する。

他の関連化合物は、天然産物 CC-1065 (レイノルズ、ヴィ.エル。(Reynolds, V.L.))、モリネウックス、ティ.ジェイ。(Molineux, T.J.)、カプラン、ティ.(Kaplan,

D.)、スウェンソン、ティ.エイチ。(Swenson, D.H.)、ハーレイ、エル.エイチ。(Hurley, L.H.)、バイオケミストリー(Biochemistry)、1985、24、6228)、および合成剤

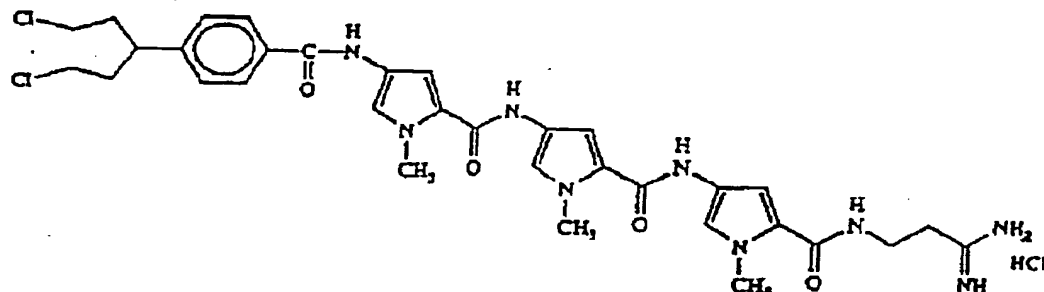


CC-1065

FCE 24517 (アルカモネ、エフ.エム。(Arcamone, F.M.))、アニマチ、エフ。(Animati, F.)、バービエリ、ビー。(Barbieri, B.)、コンフィグリアッチ、イー。(Configliacchi, E.)、ダレッシオ、アール。(D'Alessio, R.)、ゲローニ、シー。(Geroni, C.)、ギウラニ、エフ.シー。(Giulani, F.C.)、ラッザリ、イー。(Lazzari, E.)、メノッジ、エム。(Menozzi, M.)、モンゲッティ、エヌ。(Mongetti, N.)、ペンコ、エス。(Penco, S.)、ヴェリニ、エー。(Verini, A.)、ジャー

ナル・オブ・メディシナル

・ケミストリー(J. Med. Chem.), 1989, 32, 774) である。



FCE 24517

CC-1065それ自身は、遅発性死症候群(delayed death syndrome)により、臨床適用には毒性が強すぎるために、アップジョン社(Upjohn)により製造された3種の合成アナログが臨床試験されている。化合物FCE 24517もまた、この時期に臨床試験されている。

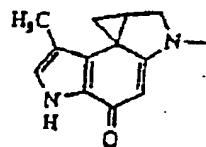
発明の概要

標記の薬剤は、下記の一般的構造を有する化合物である：



ここで

CPI=



R = CH₃ または CH₂CH₂ または CH=CH(Z または E)、あるいは C≡C ; n = 0~3, m = 0~3 であり、A は、アルキル基、CH₃、CH₂CH₂、CH₂CH₂CH₂、もしくは CH₂CH₂CH₂CH₂、または正の電荷を有する基、例えば、アミジンおよび誘導体のいずれか、第2級、第3級または第4級アンモニウム塩、およびスルホニウム塩からなる部分であり、Het は、単環式複素環式部分、例えば、ピロール、イミダゾール、トリアゾール類、ピラゾール類、チアゾール、チオフェン、フラン、およびオキサゾールである。ツザメン(Zusammen)(Z)およびエントゲゲン(Entgegen)(E)は、アルケン

部分の立体配置を示す略語（それぞれ、cisおよびtransに代替される）として認められている。標記の構造は、1以上のタイプの複素環を組合せて含んでいても良い。この群の化合物は、ヒト腫瘍KB細胞系およびマウス細胞系P388に対してインビトロで抗癌作用を発揮し、P388白血病細胞を注入されたマウスに対してインビボで抗癌作用を発揮する。

標記のCPI-オリゴペプチド類は、ヒト腫瘍KB細胞に対し極めて高い効力を発揮する（表1～3）。あるケースでは、細胞毒性効力（約 10^{-11} Mの TD_{50} ）は今日まで報告された他のどの薬剤の効力よりも優れている。それらはまた、動物の腹腔内移植された腫瘍に対する効力が証明

されており、生存期間を57%まで増大させた。後者の試験において標記化合物は、構造的により直接的にCC-1065に関連する薬物の最も重大な制限となる遅発性死症候群の形跡を示さなかった。このように、CC-1065は、臨床使用には毒性が強すぎる事が証明され、遅発性死症候群を回避し得るアナログが現在、臨床試験に供されている。FCE 24517は、同様に、まだ臨床使用のための承認が得られていない。

CC-1065、FCE 24517および関連構造物にまさる標記化合物のもう1つの別の利点は、種々のDNA配列を認識し、共有結合するその能力である（表5、6）。CC-1065およびFCE 24517は、ともに厳密にATを認識する。さらに、FCE 24517は、DNAアルキル化の形跡を示さない（アルカモネら、1989）。対照的に、標記化合物は、CC-1065のようにDNAを強力にアルキル化するが、後者とは違って、可変オリゴペプチドを介して全く異なる配列を認識し共有結合することができる。これは、治療的に非常に重要である。というのは、シクロホスファミド、ニトロソウレア類およびミトゾロミド(mitozolomide)のような臨床的に有効なアルキル化剤(alkylators)は、3個もしくはそれ以上のグアニンの連なり(run)の中央部のグアニンのアルキル化に関して、顕著なDNA配列選択性を示すからである

（ハートレイ、ジェイ．エー．(Hartley, J.A.)、ギブソン、エヌ．ダブリュ．(Gibson, N.W.)、コーン、ケー．ダブリュ．(Kohn, K.W.)、マッテス、ダブリュ

・ビー. (Mattes, W.B.), キャンサー・リサーチ (Cancer Research), 1986, 46, 1943)。ゲノムのそのようなG-リッチ領域、特にオンコジーンの有効な標的化は、そのような配列指向性(sequence-directed)アルキル化剤の独特の有効性に関する基礎を提供するかもしれない(ハートレイ, ジェイ. エー. (Hartley, J. A.), ロウン, ジェイ. ダブリュ. (Lown, J.W.), マッテス, ダブリュ. ビー. (Mattes, W.B.), コーン, ケー. ダブリュ. (Kohn, K.W.), Acta Oncologica, 1988, 27, 503)。CPIアルキル化部分とオリゴペプチド側鎖の多様な(versatile)DNA配列解読能力との組合せは、これらの薬剤に格別の細胞毒性効力を与え、例えば、YW-059の場合には報告されている他のどの天然または合成薬剤の効力よりも優れている。

好ましい実施態様の詳細な説明

本発明の化合物は、抗癌活性を明らかに示す。表1～3に要約される下記のデータは、KBヒト鼻咽頭腫瘍細胞に対する、新規なCPI-オリゴペプチドの極めて高い細胞毒性効力のインビトロでの証拠を実証する。YW-059の場合(表2)には、その細胞毒性の効力は、今日まで報告

された、天然または合成の他のどの薬剤の効力よりも優れている。表3は、イミダゾールを有する代表的なCPI-オリゴペプチド類に関する細胞毒性のデータ、即ち、それらのペプチドが、CC-1065またはFCE 24517のいずれかによれば厳密に限定されるAATT認識とは全く異なって、混合DNA配列を認識し共有結合できることを示している。表4は、新規な薬物について、有意な抗癌活性がインビボでも発揮されることを確認する動物でのデータを示している。

表 1. 新規な CPI-オリゴペプチドに関する細胞毒性
データ

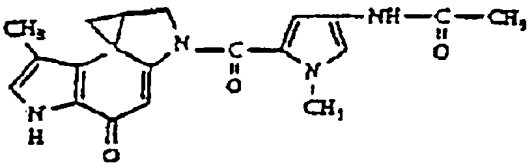
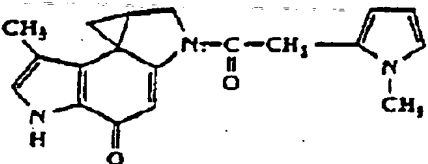
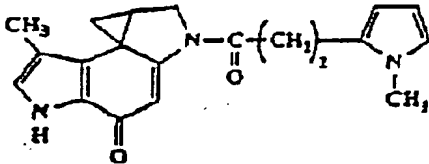
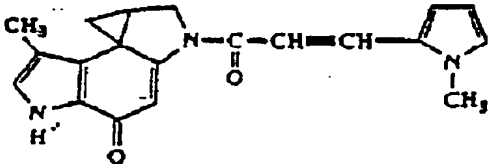
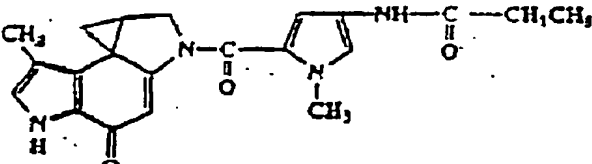
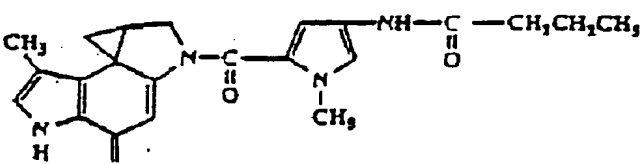
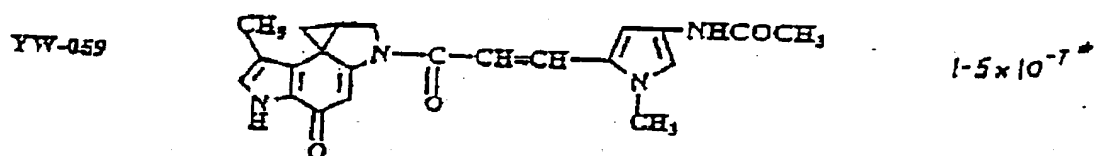
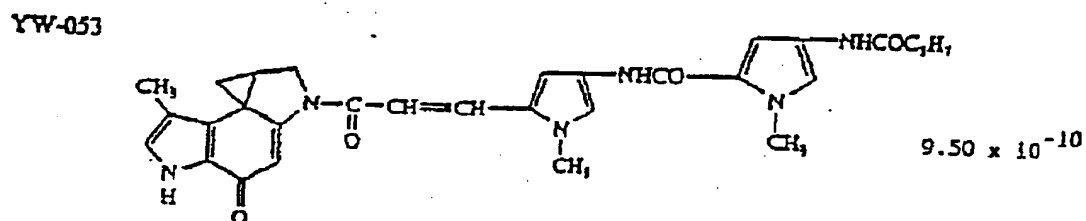
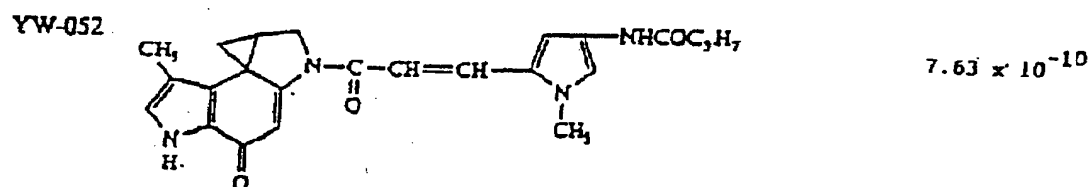
コード名	機 造	KB細胞、毒性 $TD_{50} / \mu g \text{ mL}^{-1}$
YW-031		3.24×10^{-5}
YW-032		3.8×10^{-2}
YW-033		2.63×10^{-1}
YW-034		2.75×10^{-4}
YW-035		1×10^{-3}
YW-036		4.71×10^{-4}
アドリアマイシン	7	1.1×10^{-2}

表 2. 新規な CPI-オリゴペプチドに関する細胞毒性
データ

コード名 : 構 造 KB細胞、毒性 $TD_{50} / \mu\text{g mL}^{-1}$



CC-1063 -

アドリアマイシン

1×10^{-6}

5×10^{-7}

*約 10^{-15} M の TD_{50} に等しい、即ち、これまでに報告された最も強力な細胞毒性剤

表 3. 新規な CPI-オリゴペプチドについての細胞毒性
データ

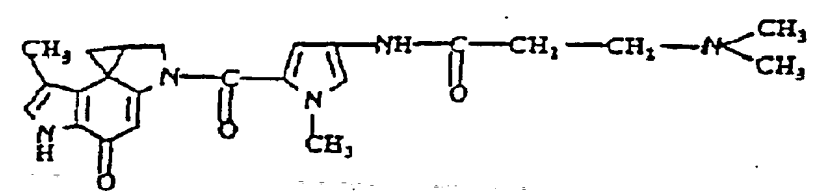
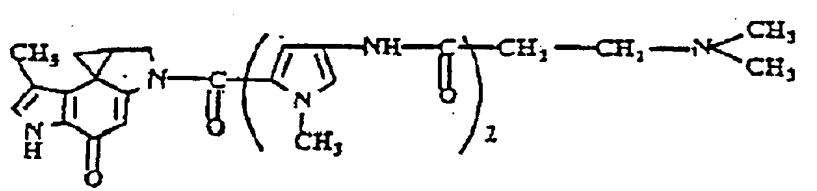
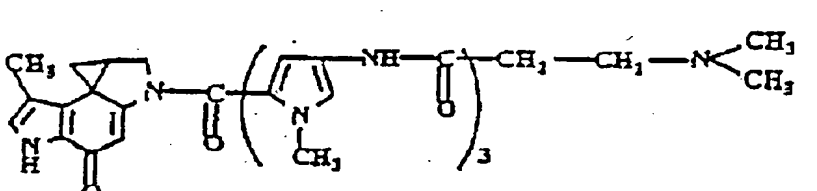
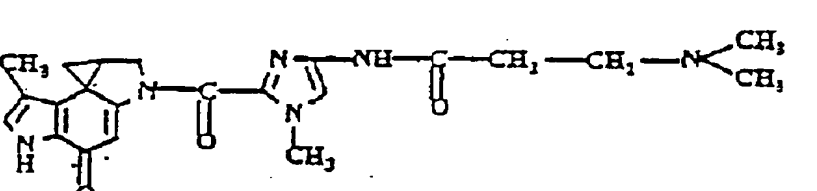
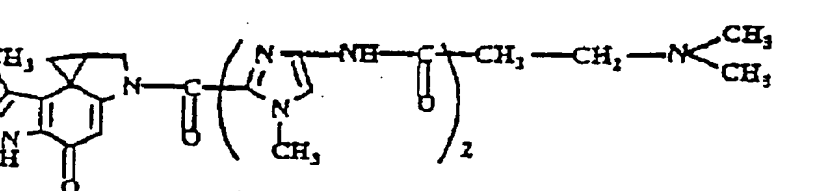
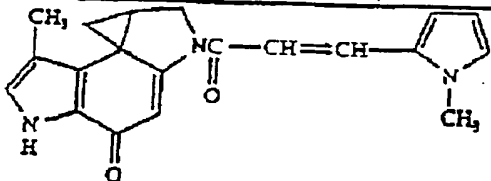
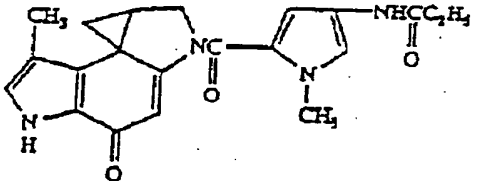
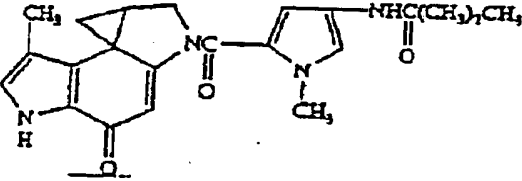
コード名	構 造	KB細胞、毒性 $TD_{50} / \mu g \text{ mL}^{-1}$
YW-60		0.184
YW-61		2.49
YW-62		1.37
YW-63		0.385
YW-64		2.52
コントロール	アドリマイシン	0.0044

表 4. CPI-オリゴペプチドのインビボでの抗癌活性

化合物	化学構造	分子量	インビボ ILS (%) P388 (腹腔内)	細胞毒性 IC ₅₀ (μg/mL) (KB細胞)
YW-34		333.4	37.9 (1 mg/kg)	0.00027
YW-35		379.4	56.5 (0.1 mg/kg)	0.001
YW-36		393.5	24.6 (1/7 cure) (0.3 mg/kg)	0.00047

1) 30日間生存の個体数は、I. L. S. 値を計算するのに含まれていない。

FCE 24517と対照的に、新規なCPI-オリゴペプチドに関して、部位および配列選択的DNAアルキル化の明確な証拠が、ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)により得られた。図1は、YW-30、YW-32、YW-33およびYW-34に関するPAGEをCC-1065と比較して示している。表5は、CPI-オリゴペプチドに関して異なる部位でのアルキル化強度を定量し、CC-1065と比較している。最も強力な薬物YW-052およびYW-053の幾つかに関するPAGEの結果は、図2に示され、第一および第二のアルキル化部位については表6に表わされている。YW-052およびYW-053に関する、顕著なアルキル化部位に隣接する塩基の出現頻度の詳細な分析をCC-1065と比較して表7に示す。これらのデータは、新しい薬物の抗癌特性の発現を生じる主要な細胞事象の証拠、および如何にそれらがCC-1065と詳細に異なるかを示してい

る。

表 5. CC-1065およびそのアナログのアルキル化部位と
アルキル化強度の要約

化合物	アルキル化強度 (於)									
	ATAA*	AATA*	ATAA*	GATA*	TTAA*	GTTA	TATA	TTTA	CTTA	GAAA
CC-1065	1.47	1.08	.96	.80	.80	1.20	1.02	1.09	.61	.35
YW-30	.76	1.27	.85	1.38	.55	.95	.83	.50	.44	.66
YW-32	.88	1.35	1.01	1.35	.71	1.03	1.05	.63	.61	.79
YW-33	.95	1.42	1.11	1.41	.84	1.27	1.40	.97	.68	.84
YW-34	.71	1.30	.84	1.09	.52	.73	.77	.49	.44	.55

*は、3'末端のアルキル化アデニンを示す

表 6. CC-1065およびそのアナログのアルキル化部位

化合物	アルキル化部位*(5'-3')									
	強い					中程度				
CC-1065	TTTA	GATA	ATAA	AATA	TATA	TTAA	GTTA	CTTA	ATAA	GGAA
YW-52	TTTA	GATA	ATAA	AATA	TATA	TTAA	GTTA	CTTA	ATAA	ATGG, GCGA
YW-53	TTTA	TATA	GTTA	AATA	TTAA	AATG	GATA	ATAA	ATAA	CTTA, GAAA

*アルキル化部位は、3'末端の下線を引いた塩基により示される。

表 7. CC-1065およびそのアナログの顕著なアルキル化
部位に隣接するDNA配列の分析

化合物		出現の頻度(%)							
		-3	-2	-1	A*	G*	+1	+2	+3
CC-1065	A	30	40	40	100	0	30	30	20
	T	30	60	60			50	30	30
	G	10	-	-			20	40	40
	C	30	-	-			-	-	10
	A/T	60	100	100			80	60	50
YW-52	A	36	27	27	91	9	46	36	27
	T	27	64	55			36	37	27
	G	27	9	18			18	27	36
	C	10	-	-			-	-	10
	A/T	63	91	82			82	73	54
YW-53	A	36	45	36	91	9	27	27	27
	T	27	55	64			45	27	27
	G	27	-	-			28	37	37
	C	10	-	-			-	9	9
	A/T	63	100	100			82	54	54

*は、アルキル化の部位を示す。アルキル化部位の
左および右のコラムは、それぞれ5'および3'側の塩
基を示す。

本発明の化合物は、抗癌剤として有用である。本化合物の1種もしくはそれ以上
のものの有効量が、好ましくは薬学的に許容される担体または希釈剤の存在下
に、患者に投与される。薬学的に相溶性の結合剤および／または添加剤(adjuvan
t)物質も含むことができる。

本発明の化合物は、任意の経路、例えば、経口的、非経口的、経静脈的、皮内

、皮下、経直腸的または局所的に、液体形態または固体形態で、投与され得る。注射を目的とする場合、使用される媒体は、滅菌液であって良い。注射媒質としては、慣用の安定化剤、可溶化剤および／または緩衝剤を含む水を使用することが好ましい。望ましい添加剤は、酒石酸塩およびホウ酸塩緩衝剤、エタノール、ジメチルスルホキシド、錯体形成剤（例えば、エチレンジアミン四酢酸）、粘性調節のための高分子ポリマー（例えば、液体ポリエチレンオキシド）または無水ソルビタンのポリエチレン誘導体を含むがそれに限定されない。固体の担体物質は、デンプン、乳糖、マンニトール、メチルセルロース、タルク、高度分散ケイ酸、高分子量脂肪酸（例えば、ステアリン酸）、ゼラチン、寒天、リン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、動物および植物の脂肪または固体高分子量ポリマー（例えば、ポリエチレングリコール）を含むがそれに限定さ

れない。

本化合物は、当分野で慣用されている薬用量および量で投与され得る。該化合物は、約 1-200mg／総体重 kg／日の用量範囲で使用され得る。用量は、一度に投与して良く、または様々な時間間隔で少量ずつ何回かに分けて投与しても良い。

図面の簡単な説明

図 1 は、YW-30、YW-32、YW-33、YW-34 および CC-1065 に関する PAGE の結果を示す。

図 2 は、CC-1065、YW-052 および YW-053 に関する PAGE の結果を示す。

図 3 は、シクロプロピルピロロインドール-オリゴペプチド抗癌剤に関する合成経路を示す。

発明の好ましい実施態様を、下記の実施例の中で例示するが、それら実施例は、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。

実施例 1

1,2,8,8a-テトラヒドロ-7-メチル-2-(4-ブチルアミド-N-メチル-2-ピロールアクリロイル)-シクロプロバ[c]-ピロロ[3,2,e]インドール-4-(5H)-オン (CP7-19)

式 X を有する化合物 CP7-19 [式中、R = トランス-CH=CH; Het = N-メチルピロール; m = 1; n = 0; A = ブチルア

ミド] を調製した。10% Pd/C (30 mg) およびギ酸アンモニウム (30 mg) を、報告されている方法 (ディ. エル. ボガー (D.L. Boger) およびアール. エス. コールマン (R.S. Coleman)、ジャーナル・オブ・ザ・アメリカン・ケミカル・ソサイエティ (J. Am. Chem. Soc.), 1988, 110, 4796-4807 を参照のこと) を用いて合成された5-ベンジルオキシ-3-tert-ブチルオキシカルボニル-1-クロロメチル-8-メチル-1,2-ジヒドロ-3Hピロロ[3,2-e]インドール (30 mg) に添加し、テトラヒドロフランおよびメタノールの溶液 (0.8 ml, 1/1, v/v) に溶解し、該反応混合物を室温で20分間攪拌した。固形分を濾過によって除去し、水 (2 ml) を加えた。生成物を酢酸エチル (10 ml x 3) で抽出し、有機相を硫酸ナトリウム上で乾燥した。溶媒を真空下で除去し、オイル CP7-13 を生成した。さらに精製することなく、オイル CP7-13 を酢酸エチル (3 ml) 中無水3N 塩酸で、室温で40分間処理した。溶媒を真空下で除去して、不安定な中間産物 CP7-14 を得た。さらに精製することなく、CP7-14 を窒素下でジメチルホルムアミド (1 ml) に溶解した。4-ブチルアミド-N-メチル-2-ピロールアクリル酸 (CP7-6) (16.6 mg) および1-[(3-ジメチラン-リノ) プロピル-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (67.6 mg) を逐次加えた。反応混合物を、暗所で室温にて2日間攪拌した。該混合

物をシリカプレート上で、アセトンと酢酸エチルの混合物 (1:1, v/v) で溶離して精製し、不安定な CP7-17 を得た。さらに精製することなく、アセトニトリル、トリエチルアミンおよび水 (それぞれ 0.6 ml) の混合物に、CP7-17 を溶解し、反応混合物を30分間窒素下で攪拌した。溶媒を高度真空ポンプにより除去し、残渣をアセトンに溶解した。該混合物をシリカプレート上で、アセトンおよび酢酸エチルの混合物 (1:1, v/v) で溶離して精製した。9.4 mg (収率 32%) の黄色い粉末が得られた。¹H NMR (アセトン-d₆, ppm): 10.48 (br s, 1H, NH), 8.97 (br s, 1H, NH), 7.63-7.58 (d, 1H, J=15.5 Hz, CHCH), 7.34 (d, 1H, J=2.0 Hz, C5'-H), 6.88 (br m, 1H, C6-H), 6.72 (br s, 1H, C3-H), 6.67 (d, 1H, J=2.0 Hz, C3'-H), 6.58-6.62 (d, 1H, J=15.5 Hz, CHCH), 4.31-4.27 (d, 1H, J=10.5 Hz, NCHH), 4.21-4.16 (dd, 1H, J=4.5, 10.5 Hz, NCHH), 3.76 (s, 3H, NCH₃), 3.08-3.03 (m, C8a-H), 2.27-2.21 (t, 2H, J=7.5 Hz, CH₂CH₂CH₂), 1.97-1.93 (dd, 1H, J=4.5, 7.5 H

z, C8-HH), 1.7-1.59(m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 1.28-1.25(t, 1H, J=4.5 Hz, C8-HH), 0.94-0.89(t, 3H, J=7.5 Hz, CH₃CH₂CH₂). C₁₅H₂₁N₂O₃H 419.2083 に関して計算された FABHRMS は、419.2092(100%) であることが判った。

実施例 2

1,2,8,8a-テトラヒドロ-7-メチル-2-[4-(4-ブチルアミド-N-メチル-2ピロールカルボキシアミド)-N-メチル-2-ピロールアクリロイル]シクロプロパ[c]-ピロロ[3,2,e]インドール-4-(5 H)-オン (CP7-20)

式 X を有する化合物 CP7-20 [式中、R = トランス-CH=CH; Het=N-メチルピロール; m = 2; n = 0; A = ブチルアミド] を 5-ベンジルオキシ-3-tert-ブチルオキシカルボニル-1--クロロメチル-8-メチル-1,2-ジヒドロ-3H-ピロロ[3,2-e]リンドール (30 mg) および 4-(4-ブチルアミド-N-メチル-2-ピロールカルボキシアミド)-N-メチル-2-ピロールアクリル酸 (25 mg) から、CP7-19 に関して記載されたのと同じ方法を用いて調製した。生成物は、黄色い粉末 (収率 15%) である。¹H NMR (アセトン-d₆, ppm): 10.54 (br s, 1H, NH), 9.25 (br s, 1H, NH), 8.97 (br s, 1H, NH), 7.64-7.60 (d, 1H, J=15.5 Hz, CHCH), 7.42 (d, 1H, J=2.0 Hz, C5'-H), 7.17 (d, 1H, J=2.0 Hz, C5'-H), 6.89 (br m, 1H, C6-H), 6.83 (d, 1H, J=2.0 Hz, C3'-H), 6.80 (d, 1H, J=2.0 Hz, C3''-H), 6.73 (br s, C3-H), 6.58-6.63 (d, 1H, J=15.5 Hz, CHCH), 4.32-4.28, (d, 1H, J=10.5 Hz, NCHH), 4.22-4.17 (dd, 1H, J=4.5, 10.5 Hz, NCHH), 3.90 (s, 3H, NCH₃), 3.78 (s,

3H, NCH₃), 3.09-3.03 (m, C8a-H), 2.25-2.20 (t, 2H, J=7.5 Hz, CH₂CH₂CH₂), 1.97-1.94 (dd, 1H, J=4.5, 7.5 Hz, C8-HH), 1.70-1.58 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 1.29-1.27 (t, 1H, J=4.5 Hz, C8-HH), 0.94-0.89 (t, 3H, J=7.5 Hz, CH₃CH₂CH₂). C₃₀H₃₂N₂O₄H 541.2563 に関して計算された FABHRMS は、541.2563(100%) であることが判った。

実施例 3

1,2,8,8a-テトラヒドロ-7-メチル-2-(N-メチル-2-ピロールアセトキシ)シクロプロパ-[c]-ピロロ[3,2,e]インドール-4-(5 H)-オン (CP5-13)

式 X を有する化合物 CP5-13 [式中、 $R = CH_2$; $Het = N$ -メチルピロール; $m = 1$; $n = 0$; $A = H$] を調製した。5-ベンジルオキシ-3-tert-ブチルオキシカルボニル-1-クロロメチル-8-メチル-1,2-ジヒドロ-3H-ピロロ[3,2-e]インドール (10 mg, 23 μ mol) を酢酸エチル (2 ml) 中 3 N HCl に溶解し、該溶液を室温で 40 分間攪拌した。溶媒を除去し、ジクロロメタン (2 ml) を添加した。ジクロロメタンを除去し、残渣をジメチルホルムアミド (0.5 ml) に溶解した。N-メチル-2-ピロール酢酸 (5 mg, 36 μ mol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (40 mg, 208 μ mol) および炭酸水素ナトリウム (10 mg) を逐次加えた。該反応混合物を、室温で終夜攪拌し、次いで、

酢酸エチルおよびヘキサンの混合物 (1:3 ~ 1:1, v/v) で溶出するフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製した。白い固形物 CP5-9 (10.2 mg, 22.8 μ mol, 97 %) が得られた: mp 188-190 $^{\circ}C$; 1H NMR ($CDCl_3$): 8.18 (br s, 1H, NE), 8.04 (s, 1H, C4-H), 7.47-7.34 (m, 5H, C_6H_5), 6.96 (s, 1H, C7-H), 6.63 (s, 1H, C5'-H), 6.10 (s, 2H, C3'-H, C4'-H), 5.22-5.13 (q, 2H, $J=3.0, 12$ Hz, $C_2H_5CH_2O$), 4.45-4.41 (d, 1H, $J=11.0$ Hz, $NCHH$), 4.0-3.93 (m, 1H, $CH_2ClCHCH_2$), 3.85-3.80 (m, 3H, $COCH_2$, $CHHCl$), 3.70 (s, 3H, NCH_3), 3.40-3.33 (t, 1H, $J=10.5$ Hz, $CHHCl$), 2.40 (s, 3H, $ArCH_3$); $C_{22}H_{22}ClN_2O$: 447.1716 について計算された EIH RMS は、447.1708 であることが判った。

CP5-9 (5.1 mg, 11.4 μ mol) のメタノールおよび THF (0.6 ml, 1:1, v/v) 溶液に、ギ酸アンモニウム (10 mg) および 10% Pd/C (10 mg) を加え、該反応混合物を室温で 20 分間攪拌した。混合物を濾過し、濾液を酢酸エチル (10 ml x 2) で抽出した。溶媒を、真空下で除去した。残渣にアセトニトリル (1 ml)、トリエチルアミン (0.2 ml) および水 (0.2 ml) を加え、該溶液を室温で 30 分間攪拌した。溶媒を除去し、フラスコ中の塩を水 (2 ml x 3) を用いて洗い流した。フラスコを乾燥して、エーテルを加えた。固形

生成物を濾過し、より多くのエーテルで洗い流した。灰色の粉末 1.5 mg (4.67 μ mol, 収率 41%) が得られた: 1H NMR (アセトン- d_6): 6.87 (s, 1H, C6-H), 6.62-6.6

0 (t, 1H, $J=2.0$ Hz, C5'-H), 5.91-5.89 (t, 1H, $J=3.0$ Hz, C4'-H), 5.88-5.86 (m, 1H, C3'-H), 4.32-4.29 (d, 1H, $J=11.0$ Hz, NCHH), 4.21-4.16 (m, 1H, NCHH), 3.88-3.86 (d, 2H, $J=5.0$ Hz, COCH₂), 3.56 (s, 3H, NCH₃), 3.08-3.04 (m, 1H, C8a-H), 2.01 (d, 3H, $J=1.0$ Hz, ArCH₃), 1.92-1.88 (dd, 1H, $J=4.0, 7.0$ Hz, C8-HH), 1.23-1.20 (t, 1H, $J=4.5$ Hz, C8-HH); C₁, H₁, N, O₂ について計算された EIHRMS 321.1462 は、321.1479 であることが判った。

実施例 4

1,2,8,8a-テトラヒドロ-7-メチル-2-(N-メチル-2-ピロールプロピオニルオキシ)シクロプロバ(c)-ピロロ[3,2,e]インドール-4-(5 H)-オン (CP5-14)

式 X を有する化合物 CP5-14 [式中、R = CH₂CH₂; Het = N-メチルピロール; m = 1; n = 0; A = H] を調製した。CP5-9 について記載されたのと同じ方法を用いて、5--ベンジルオキシ-3-tert-ブチルオキシカルボニル-1-クロロメチル-8-メチル-1,2-ジヒドロ-3H-ピロロ[3,2-e]インドールおよび N-メチル-2-ピロールプロピオン酸から、5-ベン

ジルオキシ-1,2-ジヒドロ-1-クロロキシメチル-8-メチル-3(N-メチル-2-ピロールプロピオニルオキシ)-3H-ピロロ[3,2-e]インドール (CP5-10) を白い固体として収率 60% で合成した: mp 159-161°C; ¹H NMR (アセトン-d₆): 8.09 (s, 1H, C4-H), 7.58-7.30 (m, 5H, C₆H₅), 7.08 (s, 1H, C7-H), 6.56-6.55 (t, 1H, $J=2.0$ Hz, C5'-H), 5.90-5.88 (dd, 1H, $J=0.5, 2.5$ Hz, C4'-H), 5.88-5.86 (m, 1H, C3'-H), 5.23 (s, 2H, C₆H₅CH₂O), 4.30-4.18 (m, 2H, NCH₂), 4.33-3.96 (m, 1H, CH₂ClC(H)C), 3.89-3.84 (dd, 1H, $J=2.5, 10.5$ Hz, CHHCl), 3.70 (s, 3H, NCH₃), 3.53-3.46 (t, 1H, $J=10.5$ Hz, CHHCl), 2.96-2.79 (m, 4H, CH₂CH₂), 2.40 (s, 3H, ArCH₃); C₂₇H₂₇ClN₂O₂ 461.1873 について計算された EIHRMS は、461.1873 であることが判った。

N,N-ジメチルホルムアミド (0.2 ml) およびテトラヒドロフラン (0.8 ml) 中の水素化ナトリウムを最終環化反応のために使用したことを除いて、CP5-13 に関して記載されたのと同様の手順で CP5-10 を処理することによって、収率 46% の灰色の固体 CP5-14 を得た: ¹H NMR (DMF-d₆): 6.95 (s, 1H, C6-H), 6.66-6.64 (t, 1H, $J=$

2.0 Hz, C5'-H), 5.90-5.88(t, 1H, J=3.0 Hz, C4'-H), 5.85-5.82(m, 1H, C3'-H), 4.26-4.22(d, 1H, J=11.0 Hz, NCH-H),

4.20-4.17(m, 1H, NCHH), 3.60(s, 3H, NCH₃), 3.15-2.90(m, 1H, C8a-H), 2.30(d, 3H, J=1.0 Hz, ArCH₃), 1.94-1.90(dd, 1H, J=4.0, 7.0 Hz, C8-HH), 1.25-1.22(t, 1H, J=4.5 Hz, C8-HH); C₂₁H₂₁N₃O; 335.1636について計算されたEIHRM Sは、335.1618であることが判った。

実施例 5

1,2,8,8a-テトラヒドロ-7-メチル-2-(4-アセトアミド-N-メチル-2-ピロールカルボキシ)シクロプロパ[c]-ピロロ(3,2,e)インドール-4-(5 H)-オン (CP4-19)

式Xを有する化合物CP4-19[式中、R = 0; Het=N-メチルピロール; m = 1; n = 0; A = アセトアミド]を調製した。5-ベンジルオキシ-3-tert-ブチルオキシカルボニル-1-クロロメチル-8-メチル,2-ジヒドロ-3H-ピロロ[3,2-e]インドール(20 mg, 47 μmol)を酢酸エチル中3 N HClに溶解し、該溶液を室温にて40分間攪拌した。溶媒を除去し、ジクロロメタン(2 ml)を加えた。ジクロロメタンを除去し、残渣をジメチルホルムアミド(1 ml)に溶解した。4-アセトアミド-N-メチル-2-ピロールカルボン酸(CP4-5)(10.2 mg, 56 μmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(45 mg, 234 μmol)および炭酸水素ナトリウム(20 mg)を逐次加えた。該反応混合物

を、室温で終夜攪拌し、次いで、酢酸エチルを溶出液として用いるフラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製した。灰色の粉末(18.4 mg, 収率80%)を生成物CP4-11として得た: mp 143-145 °C; ¹H NMR(500 MHz, CDCl₃): 8.15(br s, 1H, NH), 8.00(br s, 1H, NH), 7.60(br s, 1H, C4-H), 7.43-7.32(m, 5H, C₆H₅), 7.24(s, 1H, c5'-H), 6.97(s, 1H, c7-H), 6.42(s, 1H, c3'-H), 5.22-5.11(q, 2H, J=6.6, 25.8 Hz, PhCH₂O), 4.52-4.50(d, 1H, NCHH, J=6.6 Hz), 4.31-4.27(dd, 1H, J=4.8, 6.6 Hz, NCHH), 3.83-3.78(m, 5H, CHHCl, CH₂ClCH₂, NC H₃), 3.42-3.38(t, 1H, J=6.6 Hz, CHHCl), 2.40(s, 3H, ArCH₃), 2.17(s, 3H, CH₃CO); C₂₇H₂₇N₄O₂Cl 490.1774について計算されたEIHRMSは、490.1765である

ことが判った。

CP4-11 (20.6 mg, 42 μ mol) のメタノールおよびテトラヒドロフラン (0.6 ml, 1 : 1, v/v) 溶液に、ギ酸アンモニウム (20 mg) および 10% Pd/C (20 mg) を加え、該反応混合物を室温で 20 分間攪拌した。混合物を濾過し、水 (3 ml) を濾液に加えた。混合物を酢酸エチル (10 ml x 2) で抽出した。溶媒を真空下で除去した。残渣にアセトニトリル (0.4 ml)、トリエチルアミン (0.2 ml) および水 (0.2 ml) を加え、該溶液を室温で 20 分間攪拌した。溶媒を除去し、

フラスコ中の塩を水 (2 ml x 3) を用いて洗い流した。エチルエーテルを加えて、固体生成物を濾過し、より多くのエーテルで洗浄した。灰色の粉末の生成物 (10.5 mg, 収率 69%) が得られた： ^1H NMR (アセトン- d_6) : 10.10 (br s, 1H, NH), 8.74 (br s, 1H, NH), 7.28 (s, 1H, C5'-H), 6.82 (s, 1H, C6-H), 6.45 (s, 1H, C3'-H), 6.17 (s, 1H, C3-H), 4.22-4.17 (dd, 1H, NCHH, $J=4.5, 11$ Hz), 4.08-4.05 (d, 1H, $J=11$ Hz, NCHH), 3.77 (s, 3H, NCH₃), 2.93-2.87 (m, 1H, C8a-H), 2.02-1.97 (m, 7H, ArCH₃, CH₂CO, C8-HH), 1.40-1.33 (q, 1H, $J=5.0, 10$ Hz, C8-HH), C₂H₅N₂O, 364.1537 について計算された EIHRMS は、364.1580 であることが判った。

実施例 6

1,2,8,8a-テトラヒドロ-7-メチル-2-{4-[4-[4-(3-ジメチルアミノプロピオンアミド)-Nメチルピロール-2-カルボキシアミド]-N-メチルピロール-2-カルボキシアミド]-Nメチルピロール-2-カルボキシシクロプロパ(c)-ピロロ[3,2,e]インドール-4-(5 H)-オン (CP338)

式 X を有する化合物 CP3-38 [式中、R = 0; Het = N-メチルピロール; m = 3; n = 0; A = 3-ジメチルアミノプロピオンアミド] を調製した。Pd/C (5 mg) およびギ酸アンモニウム (25 mg, 397 μ mol) を、テトラヒドロフランとメタ

ノールの溶液 (0.6 ml, 1/1, v/v) 中に溶解した 5-ベンジルオキシ-3-tert-ブチルオキシカルボニル-1-クロロメチル-8-メチル-1,2-ジヒドロ-3H-ピロロ[3,2-e]インドール (CP3-28, 20 mg, 47 μ mol) に加え、該反応混合物を室温で 20 分間攪拌し

た。固体を濾過により除去し、水 (2 ml) を濾液に加えた。該混合物を酢酸エチル (5 ml x 3) で抽出し、有機相を硫酸ナトリウム上で乾燥した。溶媒を真空下で除去し、無色の固体 CP3-29 を得た。さらに精製することなく、CP3-29 を酢酸エチル中無水 3 N 塩酸で室温で 40 分間処理した。溶媒を真空下で除去し、不安定な CP3-30 を得た。該 CP3-30 に、窒素下で、ジメチルホルムアミド、(0.8 ml)、炭酸水素ナトリウム (21 mg, 250 μ mol)、4-(4-[4-(3-ジメチルアミノプロピオンアミド)-N-メチルピロール-2-カルボキシアミド]-N-メチルピロール-2-カルボキシアミド)-N-メチルピロール-2-カルボン酸 (CP3-20) (21 mg, 50 μ mol) および 1-[(3-ジメチルアミノ)プロピル]3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (48 mg, 250 μ mol) を逐次加えた。該反応混合物を、暗所で室温にて終夜攪拌した。メタノールおよびアセトン (1/3, v/v) を溶離液として用いてシリカゲルプレート上で生成物 CP3-33 を精製し、ジメチルホルムアミドおよびテトラヒドロフラン (1/4, v/v) を用いてシリカを洗い流した。8 mg (11 μ mol, 収率 23

%) の不安定な 31 が得られた。CP3-33 (8 mg, 11 μ mol) のジメチルホルムアミドおよびテトラヒドロフラン (0.8 ml, 1/3, v/v) 溶液に、水素化ナトリウム (4 mg, 100 μ mol, 鉱油中 60% 分散物) を窒素下 0 °C にて加えた。該反応混合物を、0 °C にて 1 時間攪拌した。生成物を、メタノールおよびアセトン (1/3, v/v) を溶離液として用いてシリカゲルプレート上で精製し、ジメチルホルムアミドおよびテトラヒドロフラン (1/4, v/v) を用いてシリカゲルを洗い流した。生成物 CP3-38 (2.7 mg, 4 μ mol, 収率 32%) が得られた: ^1H NMR (DMF- d_7): 11-50 (s, 1H, NH), 10.10 (s, 1H, NH), 10.02 (s, 1H, NH), 9.97 (s, 1H, NH), 7.55 (d, 1H, J=1.8 Hz, py-CH), 7.31 (d, 1H, J=1.8 Hz, py-CH), 7.23 (d, 1H, J=1.8 Hz, py-CH), 7.20 (d, 1H, J=1.8 Hz, py-CH), 6.97-6.95 (m, 2 H, C6-H, py-CH), 6.82 (d, 1H, J=1.8 Hz, py-CH), 6.23 (s, 1H, C3-H), 4.33-4.28 (dd, 1H, J=4.5, 11.0 Hz, C1-H_H), 4.18-4.15 (d, 1H, J=11.0 Hz, C1-H_H), 3.95 (s, 3 H, NCH₃), 3.92 (s, 3 H, NCH₃), 3.83 (s, 3 H, NCH₃), 3.10 (m, 1H, C8a-H), 2.57-2.54 (t, 2 H, J=6.0 Hz, COCH₃), 2.43-2.39 (t, 2 H, J=6.0 Hz, CH₂N), 2.18 [s, 6 H, 2XNCH₃], 2.05 (s, 3 H, ArCH₃), 2.0 (m, ArCH₃ により部分的に不明瞭, 1H, C8-H_H), 1.43-1.41 (t

1H, J=4.5 Hz, C8-HH); C₇H₁₁N₂O₄ (M + H) 666.3152について計算されたFABHRMSは、666.3156であることが判った。

実施例 7

1,2,8,8a-テトラヒドロ-7-メチル-2-[4-[4-(3-ジメチルアミノプロピオンアミド)-N-メチルイミダゾール-2-カルボキシアミド]-N-メチルイミダゾール-2-カルボキシ]-シクロプロパ[c]ピロロ[3,2,e]インドール-4-(5 H)-オン (CP3-40)

式Xを有する化合物CP3-40 [式中、R = 0; Het=N-メチルイミダゾール; m = 2; n = 0; A = 3-ジメチルアミノプロピオンアミド] を、4-[4-(3-ジメチルアミノプロピオンアミド)-N-メチルイミダゾール-2-カルボキサミド]-N-メチルイミダゾール-2-カルボン酸および5-ベンジルオキシ-3-tert-ブチルオキシカルボニル-1-クロロメチル-8-メチル-1,2-ジヒドロ-3H-ピロロ[3,2-e]インドールCP3-28から、CP3-38に関して記載されたのと同じ手順を用いて調製した(CP3-28からの収率13%)。¹H NMR(DMF-d₇): 11.55(s, 1H, NH), 10.65(s, 1H, NH), 9.64(s, 1H, NH), 7.69(s, 1H, im-CH), 7.56(s, 1H, im-CH), 7.00(d, 1H, J=2.0 Hz, C6-H), 6.97(s, 1H, C3-H), 4.84-4.80(d, 1H, J=11.0 Hz, C1-HH), 4.54-4.48(dd

1H, J=11.0 Hz, C1-HH), 4.09(s, 3 H, NCH₃), 4.00(s, 3 H, NCH₃), 3.20(m, 1 H, C8a-H), 2.61-2.56(m, 4 H, CH₂CH₂), 2.20 [s, 6 H, 2XNCH₃], 2.05(s, 3 H, ArCH₃), 2.02-1.98(dd, 1 H, C8-HH, J=4.5, 7.5 Hz), 1.41-1.38(t, 1H, C8-HH, J=4.5 Hz); C₂₇H₃₁N₂O₄ (M + H) 546.2577について計算されたFABHRMSは、546.2583であることが判った。

実施例 8

1,2,8,8a-テトラヒドロ-7-メチル-2-[4-(4-ブチルアミド-N-メトキシメチルピロール-2カルボキシアミド)-N-メトキシメチルピロール-2-カルボキシシクロプロパ(c)-ピロロ[3,2-e]インドール-4-(5 H)-オン (CP8-26)

式Xを有する化合物CP8-26 [式中、R = 0; Het=N-メトキシメチルピロール; m

= 2; n = 0; A = ブチルアミド] を調製した。5-ベンジルオキシ-3-tert-ブチルオキシカルボニル-1-クロロメチル-8-メチル-1,2-ジヒドロ-3H-ピロロ[3,2-e]インドールCP8-14 (33 mg, 77.5 μ mol) を酢酸エチル (3 ml) 中 3 N HCl に溶解し、該溶液を室温で40分間攪拌した。溶媒を除去し、ジクロロメタン (2 ml) を添加した。ジクロロメタンを除去し、残渣をジメチルホルムアミド (1 ml) に溶解し、4-(4-ブチルアミド-N-メトキシメチルピロール-2-カルボキシアミド)-N-メトキシメチル

ピロール-2-カルボン酸CP8-11 (31 mg, 79.2 μ mol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (74 mg) および炭酸水素ナトリウム (15 mg) を逐次加えた。該反応混合物を、室温で終夜攪拌し、次いで、酢酸エチルおよびヘキサン (2:1, v/v) を溶出液として用いてフラッシュカラムクロマトグラフィーで精製して、5-ベンジルオキシ-1-クロロメチル-8-メチル-3-[4-(4-ブチルアミド-N-メトキシメチルピロール-2-カルボキシアミド)-N-メトキシメチルピロール-2-カルボキシ]-1,2-ジヒドロ-3H-ピロロ[3,2-e]インドールCP8-18を生成した (38 mg, 54 μ mol, 収率 70%) : $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 8.57 (br s, 1H, NH), 8.35 (br s, 1H, NH), 7.64-7.33 (m, 8H, C4-H, 2xPy-H, C_6H_5), 6.94 (s, 1H, C7-H), 6.70 (s, 1H, Py-H), 6.57 (s, 1H, Py-H), 5.71-5.67 (d, 1H, $J=9.0$ Hz, CHHOCH_2), 5.53 (s, 2H, CH_2OCH_2), 5.22-5.05 (m, 3H, CHHOCH_2 , PhCH_2O), 4.48-4.44 (d, 1H, NCHH , $J=11.0$ Hz), 4.27-4.21 (t, 1H, $J=9.5$ Hz, NCHH), 3.79-3.71 (m, 2H, CHHCl , CH_2ClCH_2), 3.39-3.33 (m, 4H, CHHCl , OCH_2), 3.25 (s, 3H, OCH_3), 2.38 (s, 3H, ArCH_3), 2.282-2.24 (t, 2H, $J=7$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.73-1.64 (m, 2H, $\text{H}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 0.97-0.92 (t, 3H, $J=7$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)。 $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6\text{Cl}$ H 700.2776 について

て計算されたFABHRMSは、700.2723であることが判った。

CP8-18 (38 mg, 54 μ mol) のメタノールおよびTHF (0.6 ml, 1:1, v/v) 溶液に、ギ酸アンモニウム (20 mg) および10% Pd/C (20 mg) を加え、該反応混合物を室温で20分間攪拌した。混合物を濾過し、水 (3 ml) を濾液に加えた。混合物を酢酸エチル

(10 ml x 2)で抽出した。溶媒を、真空下で除去した。残渣にアセトニトリル(1 ml)、トリエチルアミン(1 ml)および水(1 ml)を加え、該溶液を室温で1時間攪拌した。溶媒を除去し、フラスコ中の塩を水(2 ml x 3)を用いて洗い流した。エチルエーテルを加え、固体生成物を集め、より多くのエーテルで洗浄して、灰色の粉末CP8-26(16.8 mg, 収率54%)を得た：¹H NMR(アセトン-d₇)：10.52(br s, 1H, NH), 9.42(br s, 1H, NH), 9.10(br s, 1H, NH), 7.68-7.67(d, 1H, J=1.5 Hz, Py-H), 7.40-7.39(d, 1H, J=1.5 Hz, Py-H), 6.91-6.90(m, 2H, C6-H, Py-H), 6.73-6.72(d, 1H, J=1.5 Hz, Py-H), 6.14(s, 1H, C3-H), 5.77-5.67(m, 3H, CH₂OCH₃, CHHOCH₃), 5.27-5.23(d, 1H, J=10.0 Hz, CHHOCH₃), 4.25-4.20(dd, 1H, J=5.0, 11.0 Hz, NCHH), 4.12-4.08(d, 1H, J=11.0 Hz, NCHH), 3.25(s, 3H, OCH₃), 3.23(s, 3H, OCH₃), 3.06-3.00(m, 1H, CH₂CHCH₃), 2.25-2.20(t, 2H, J=7 Hz, CH₂CH₂CH₃), 1.70-1.58(m,

2H, CH₂CH₂CH₃), 1.40-1.37(t, 1H, J=4.5 Hz, C8-HH), 0.93-0.88(t, 3H, J=7 Hz, CH₂CH₂CH₃)。C₁₀H₁₄N₄O₄H 575-2618について計算されたFABHRMSは、575.2646であることが判った。

実施例 9

1,2,8,8a-テトラヒドロ-7-メチル-2-[4-(4-ブチルアミド-N-メトキシメチルイミダゾール2-カルボキシアミド)-N-メトキシメチルイミダゾール-2-カルボキシ]シクロプロパ(c)-ピロロ[3,2-e]インドール-4-(5 H)-オン (CP8-27)

式Xを有する化合物CP8-27 [式中、R = O; Het=N-メトキシメチルイミダゾール; m = 2; n = 0; A = ブチルアミド] を調製した。4-(4-ブチルアミド-N-メトキシメチルイミダゾール-2カルボキサミド)-N-メトキシメチルイミダゾール-2-カルボン酸CP8-13が使用されることを除いてCP8-18について記載されたのと同じ方法を用いて、5-ベンジルオキシ-1-クロロメチル-8-メチル-3-[4-(4-ブチルアミド-N-メトキシメチルイミダゾール-2-カルボキシアミド)-N-メトキシメチルイミダゾール-2カルボキシ]-1,2-ジヒドロ-3H-ピロロ[3,2-e]インドール (CP8-19) を収率69%で合成した：¹H NMR(CDCl₃)：10.65(br s, 1H, NH), 9.03(br s, 1H, NH), 8.28(br s, 1H, NH), 7.82(s, 1H, Im-H), 7.81(s, 1H, Im-H), 7.66(s

, 1

H, C4-H), 7.47-7.36(m, 5H, C₆H₅), 6.99(s, 1H, C7-H), 5.84-5.68(m, 4H, 2X CH₂OCH₃), 5.20-5.05(dd, 2H, J=11.0, 33.0 Hz, PhCH₂O), 4.89-4.85(d, 1H, NCHH, J=11.5 Hz), 4.80-4.74(dd, 1H, J=7.5, 11.0 Hz, NCHH), 4.02-3.80(m, 2H, CHHCl, CH₂ClCHCH₂), 3.47-3.37(m, 4H, CHHCl, OCH₃), 3.30(s, 3H, OCH₃), 2.50-2.40(t, 2H, J=7Hz, CH₂CH₂CH₂), 2.40(s, 3H, ArCH₃), 1.87-1.74(m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 1.05-1.0(t, 3H, J=7 Hz, CH₂CH₂CH₂), C₁₅H₁₇N₃O₄ClH 703.2759について計算されたFABHRMSは、703.2718であることが判った。

CP8-27を、CP8-19(30 mg, 42 μ mol)から、CP8-26について記載されたのと同様の方法を用いて、灰色の粉末(17.8 mg, 収率72%)として合成した：¹H NMR(アセトン-d₆)：10.58(br s, 1H, NH), 9.51(br s, 1H, NH), 9.48(br s, 1H, NH), 7.72(s, 1H, Im-H), 7.65(s, 1H, Im-H), 6.93-6.92(m, 1H, C6-H), 6.81(br s, 1H, C3-H), 5.88(s, 3H, CH₃OCH₃), 5.77-5.62(dd, 2H, J=11.0, 32.0 Hz, CH₂OCH₃), 4.69-4.65(d, 1H, J=11.0 Hz, NCHH), 4.51-4.46(dd, 1H, J=5.0, 11.0 Hz, NCHH), 3.36(s, 3H, OCH₃), 3.33(s, 3H, OCH₃), 3.12-3.07(m, 1H, CH₂CHCH₂), 2.43-2.38(t, 2H, J=7Hz, CH₂CH₂CH₂), 2.20-2.17(dd, 1H, J=4.5, 7.5 Hz, C8-HH), 1.

76-1.63(m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 1.33-1.29(t, 1H, J=4.5 Hz, C8-HH), 0.98-0.93(t, 3H, J=7 Hz, CH₂CH₂CH₂), C₁₅H₁₇N₃O₄H 577.2523について計算されたFABHRMSは、577.2523であることが判った。

実施例 10. 細胞毒性

KBヒト鼻咽頭癌細胞を、10%ウシ胎児血清を補足したRPMI 1640培地中で保存した。KB細胞を、プラスチック製組織培養フラスコ中で培養し、インキュベーター内で5% CO₂を含む湿った空気中で37℃にて維持した。ヘクスト(Hoechst)33258色素で測定したところ、これらの細胞はマイコプラズマに感染していなかった。

化合物の抗増殖効果を、クリスタルバイオレットによる細胞染色法を用いて測定した。

100- μ l培養物を、 10^4 細胞/ウェルにて96-ウェル組織培養プレート(ヌンク(Nunc)、ロスキルデ(Roskilde)、デンマーク)中においた。24時間後、2倍に濃縮された化合物を含む100 μ lの培養液を、細胞培養物に加えた。さらに3日間培養した後、細胞を、20 μ lの25%グルタルアルデヒドに15分間固定し、水で洗浄し、乾燥し、20%メタノール中0.05%クリスタルバイオレットで15分間染色した。水で洗浄して乾燥した後、クリスタルバイオレットを100 μ lの50 mM NaH_2PO_4 /エタノール(1:1 v/v)で抽出し、

マルチスキャンフォトメーター(コロナ、東京、日本)で OD_{540} を測定した。細胞数と染料結合量との間には、全実験で観察される細胞密度の範囲にわたって、直線的関係が見られた。非処理培養物の吸光度50%を生じた化合物の濃度は、データの直線的回帰により決定された。

実施例 11. 抗腫瘍効力

全化合物を、ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、滅菌した0.9% NaCl溶液中で希釈して、DMSOの最終濃度5%とした。BALB/c X DBA/2F1(CDF₁)マウスを、ジャパンCLEAから購入した。6週齢の雄CDF₁マウスに、処置1日前にP388リンパ球性白血病細胞を腹腔内に(10^4 細胞)接種し、次いで化合物を全量0.1 ml/マウス体重10 gの割合で腹腔内に注射した。これらのモデルに対する有効性は、非処理腫瘍保持マウスに比較して、処理マウスの生存期間の増加(ILS)として表された。得られた最大ILSを表4に示した。腫瘍接種から30日後に実験を完了し、その日の生存個体を治癒した動物として評価した。非処理動物に関する死までの期間(平均 \pm SD, n=9)は、 11.5 ± 1.2 日であった。

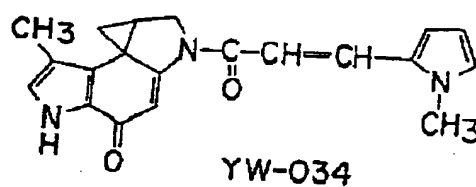
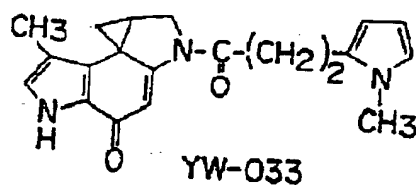
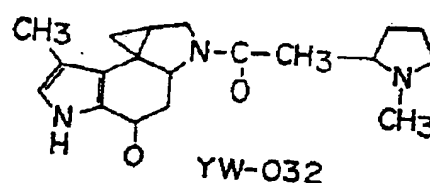
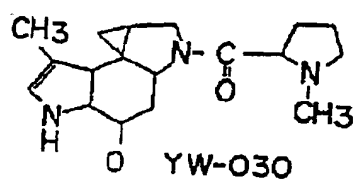
【 图 1 】

Fig. 1

Fig. 1A

Fig. 1B

Fig. 1A



【 图 2 】

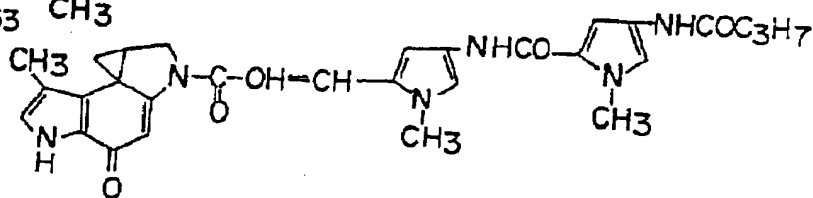
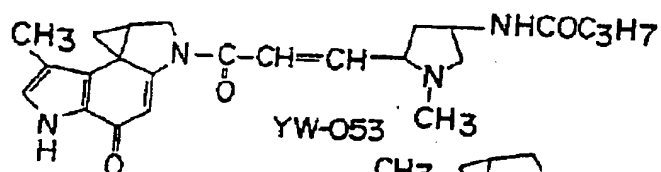
Fig. 2

Fig. 2A

Fig. 2B

Fig. 2A

YW-052



【 図 1 】

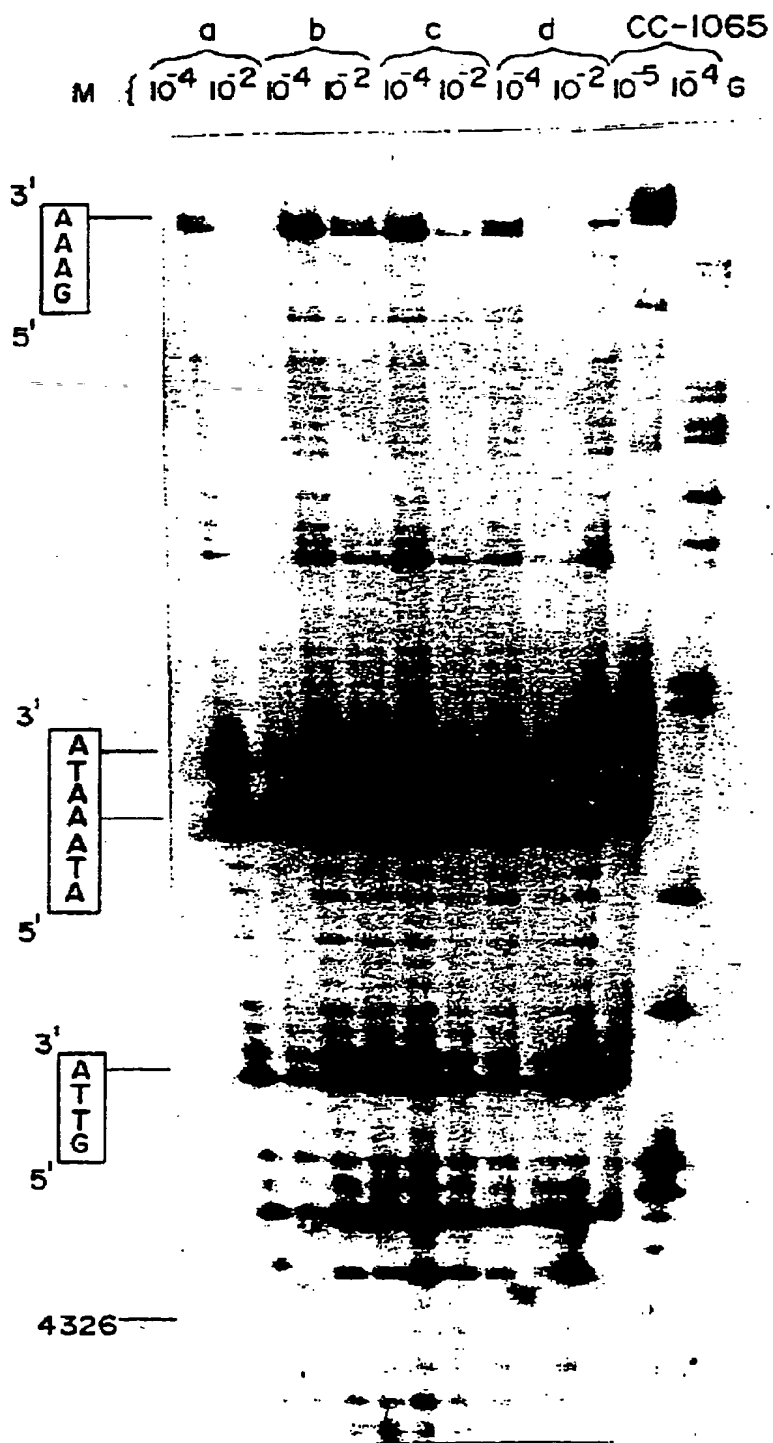


Fig. 1B

【 图 2 】

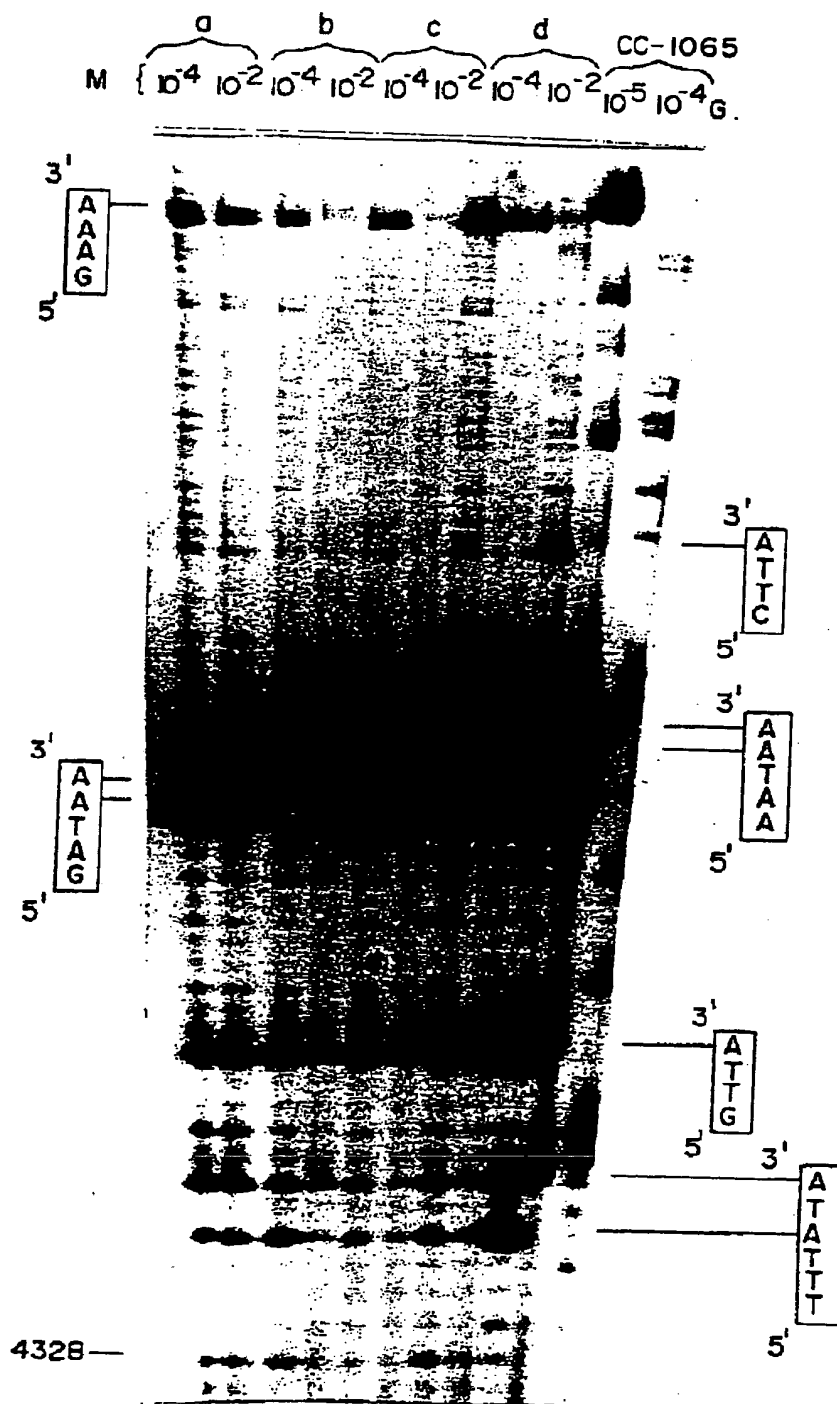
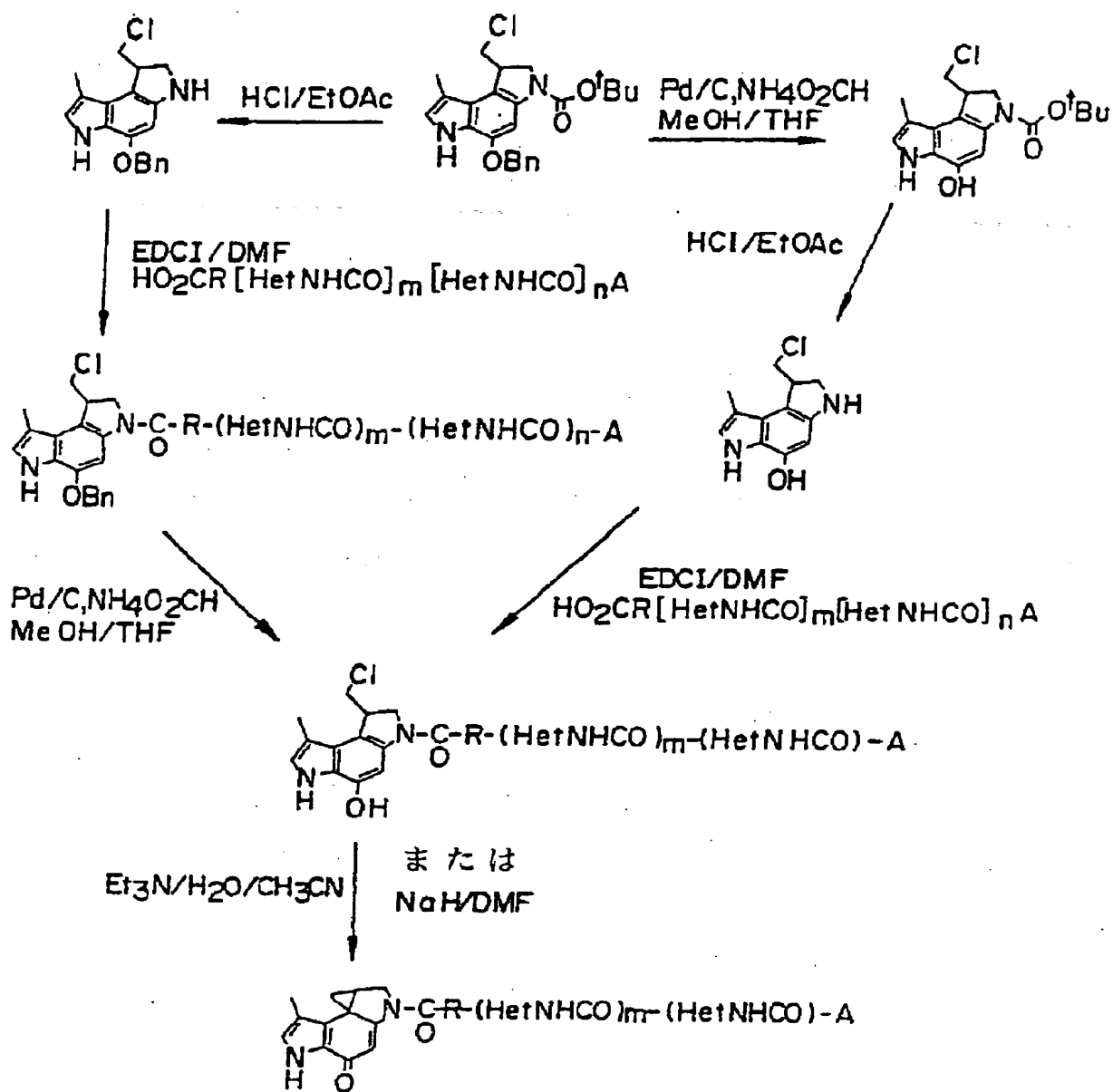


Fig. 2B

【 図 3 】

Fig. 3



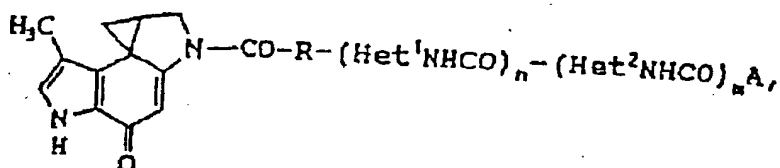
【手続補正書】特許法第 184 条の 8 第 1 項

【提出日】1996 年 12 月 23 日

【補正内容】

請求の範囲

1. 一般式：



【式中、

Het¹ および Het² は、ピロール、イミダゾール、トリアゾール、チオフェン、フラン、チアゾール、オキサゾールおよびピラゾールからなる群から個々に選択され、

R は、原子価結合；C₁-C₄ アルキル；C₂-C₄ アルケニル；C₁-C₄ アルキニル；およびオルト、メタまたはパラ結合した芳香族基からなる群から選択され、

A は、C₁-C₄ アルキル基；アミジンまたはその誘導体；グアニジン；第 2 級、第 3 級または第 4 級アンモニウム塩；およびスルホニウム塩からなる群から選択され、

n は、0～3 であり、および

m は、0～3 であり、

ここで、n=0 のとき m=1～3 である] を有する化合物。

2. R が $-\text{[CH}_2\text{]}_p-$ 、 $-\text{CH=CH-}$ 、E または Z；および $-\text{C}\equiv\text{C-}$ からなる群から選択されるものである請求項 1 に記載の化合物。

3. 前記芳香族基がフェニルおよびナフチルからなる群から選択されるものである請求項 1 に記載の化合物。

4. R が一般式 $\text{C}_p\text{H}_{2p+2}$ （ここで、p は 3～7 である）を有する二価のシクロアルカンである請求項 1 に記載の化合物。

5. Het¹ が N-アルキルピロール（ここで、アルキルは 1～4 個の炭素原子を

含む)である請求項1に記載の化合物。

6. HetがN-アルコキシメチルピロール(ここで、アルコキシは1~4個の炭素原子を含む)である請求項1に記載の化合物。

7. HetがN-アルキルイミダゾール(ここで、アルキルは1~4個の炭素原子を含む)である請求項1に記載の化合物。

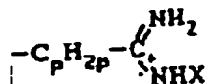
8. HetがN-アルコキシメチルイミダゾール(ここで、アルコキシは1~4個の炭素原子を含む)である請求項1に記載の化合物。

9. Het'およびHet'がチオフェン、フラン、チアゾール、オキサゾール、N-アルキルピロール、イミダゾール、ピラゾールおよびトリアゾールからなる群から個々に選択され、ここで該アルキル基が1~4個の炭素原子を含むものである請求項1に記載の化合物。

10. Het'およびHet'がチオフェン、フラン、チアゾール、オキサゾール、N-アルコキシメチルピロール、イミダゾール、ピラゾールおよびトリアゾールからなる群から個々に選択され、ここで任意のアルコキシ基が1~4個の炭素原子を含むものである請求項1に記載の化合物。

11. Aが1~6個の炭素原子を有する直鎖状アルキル基である請求項1に記載の化合物。

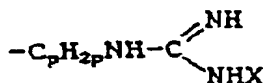
12. Aが式:



(式中、pは0~5であり、Xは-H、-OH、-NH₂、-CH₃、-CH₂CH₃、およびC₂H₅からなる群から選択される)を有する脂肪族側鎖を有するアミジンである請求項1に記載の化合物。

13. Aがアミジンであり、少なくとも1個の窒素原子が5員複素環構造の構成物である請求項1に記載の化合物。

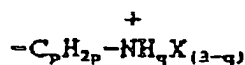
14. Aが式:



(式中、pは0~5であり、Xは-H、-OH、-NH₂、-CH₃、-CH

、CH₃、およびC₂H₅からなる群から選択される)を有するグアニジンである請求項1に記載の化合物。

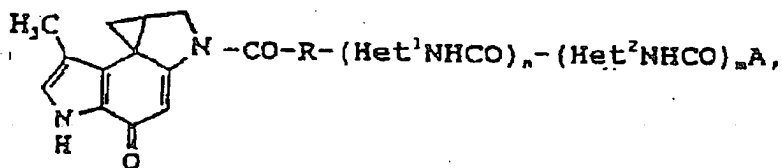
15. Aが式：



(式中、pは0~5であり、qは0、1、2、3であり、Xは1~3個の炭素原子を有するアルキル基またはアルケニル基である)を有する第4級、第3級または第2級アンモニウム塩である請求項1に記載の化合物。

16. Aが式C_pH_{2p}-SXY(式中、pは0~5であり、XおよびYは1~3個の炭素原子を有するアルキル基またはアルケニル基である)を有するスルホニウム塩である請求項1に記載の化合物。

17. 一般式：



[式中、

Het¹およびHet²は、ピロール、イミダゾール、トリアゾール、チオフェン、フラン、チアゾール、オキサゾールおよびピラゾールからなる群から個々に選択され、

Rは、原子価結合；C₁-C₆アルキル；C₂-C₆アルケニル；C₁-C₆アルキニル；およびオルト、メタまたはパラ結合した芳香族基からなる群から選択され、

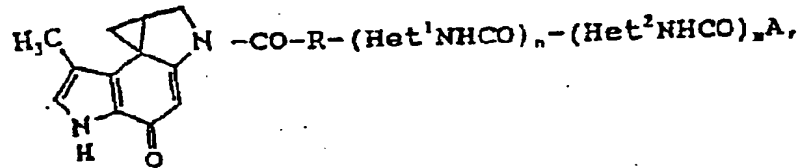
Aは、C₁-C₆アルキル基；アミジンまたはその誘導体；グアニジン；第2級、第3級または第4級アンモニウム塩；およびスルホニウム塩からなる群から選択され、

nは、0~3であり、および

m は、0～3であり、

ここで、n=0のときm=1～3である]を有する化合物を、薬学的に許容される担体とともに含む薬学的組成物。

18. 一般式：



[式中、

Het¹およびHet²は、ピロール、イミダゾール、トリアゾール、チオフェン、フラン、チアゾール、オキサゾールおよびピラゾールからなる群から個々に選択され、

Rは、原子価結合；C₁-C₄アルキル；C₁-C₄アルケニル；C₁-C₄アルキニル；およびオルト、メタまたはパラ結合した芳香族基からなる群から選択され、

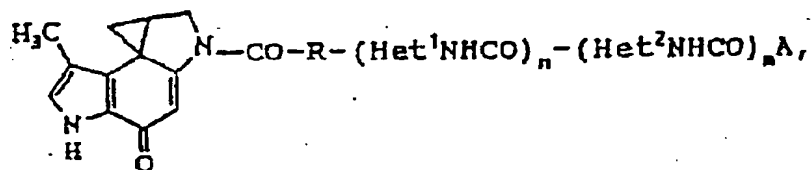
Aは、C₁-C₄アルキル基；アミジンまたはその誘導体；グアニジン；第2級、第3級または第4級アンモニウム塩；およびスルホニウム塩からなる群から選択され、

nは、0～3であり、および

mは、0～3である]を有する化合物を、特定のDNA配列をアルキル化するのに有効な量で、そのようなアルキル化を必要としている患者に投与することを包含するインビボでの特定DNA配列のアルキル化方法。

19. 前記DNA配列がオンコジーンDNA配列である請求項18に記載の方法。

20. 一般式：



[式中、

Het¹ および Het² は、ピロール、イミダゾール、トリアゾール、チオフェン、フラン、チアゾール、オキサゾールおよびピラゾールからなる群から個々に選択され、

R は、原子価結合；C₁-C₄アルキル；C₂-C₄アルケニル；C₃-C₄アルキニル；およびオルト、メタまたはパラ結合した芳香族基からなる群から選択され、

A は、C₁-C₄アルキル基；アミジンまたはその誘導体；グアニジン；第2級、第3級または第4級アンモニウム塩；およびスルホニウム塩からなる群から選択され、

n は、0～3であり、および

m は、0～3である」を有する化合物を、癌を処置するのに有効な量で、そのような処置を必要としている患者に投与することを包含する癌処置方法。

【 國際 調查 報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US96/00727

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(6) : A61K 31/40, 31/415, 31/42, 31/425; C07D 487/04, 487/06
 US CL : 514/370, 377, 397, 406, 410; 548/181, 233, 262.6, 265.4, 311.7, 364.7, 421
 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 514/370, 377, 397, 406, 410; 548/181, 233, 262.6, 265.4, 311.7, 364.7, 421

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

STN CAS ONLINE Structure

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4,978,757 A (KELLY ET AL.) 18 December 1990, column 4, lines 40-45; column 39, last line; column 49, line 5.	1-3, 11, 15, 17-20
A	US 4,912,199 A (LOWN ET AL.) 27 March 1990, entire document.	1-20
A	WO 90/02746 (THE UPJOHN CO.) 22 March 1990, page 1, abstract.	1-20

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

A documents defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

B earlier document published on or after the international filing date

L document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

Z

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 APRIL 1996

Date of mailing of the international search report

10 MAY 1996

Name and mailing address of the ISA/US
 Commissioner of Patents and Trademarks
 Box PCT
 Washington, D.C. 20231

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

Jacqueline Haley

Telephone No. (703) 308-1235

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(KE, LS, MW, SD, SZ, UG), UA(AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN

(72)発明者 ウォン ユクィアン

アメリカ合衆国 94040 カリフォルニア

マウンテン ビュー 278 モンロー

ドライブ #17

(72)発明者 ルオ ワイデ

カナダ国 ティー3エー 0ワイ1 アル

バータ エヌ. ダブリュ. カルガリー ヴ

ァリアント ドライブ 4516 アパートメ

ント 209